

ITO 4/00373

MODULARIO
I.C.A. - 101

Mod. C.E. - 1-4-7

Ministero delle Attività Produttive

Direzione Generale per lo Sviluppo Produttivo e la Competitività
Ufficio Italiano Brevetti e Marchi
Ufficio G2

REC'D 28 AUG 2004

WIPO PCT

Autenticazione di copia di documenti relativi alla domanda di brevetto per: Invenzione Industriale
N. RM2003 A 000355

Si dichiara che l'unità copia è conforme ai documenti originali depositati con la domanda di brevetto sopraspecificata, i cui dati risultano dall'accleso processo verbale di deposito.

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

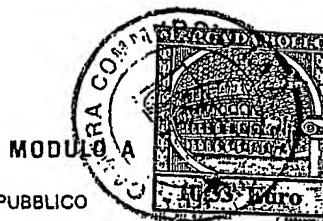
7 MAR 2004

BEST AVAILABLE COPY

IL FUNZIONARIO

Sig.ra E. MARINELLI

AL MINISTERO DELL'INDUSTRIA DEL COMMERCIO E DELL'ARTIGIANATO
UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI - ROMA
DOMANDA DI BREVETTO PER INVENZIONE INDUSTRIALE, DEPOSITO RISERVE, ANTICIPATA ACCESSIBILITÀ AL PUBBLICO



A. RICHIEDENTE (I)

1) Denominazione SIGMA-TAU Industrie Farmaceutiche Riunite N.G. SP

Residenza Roma (RM) codice ██████████

2) Denominazione ██████████

Residenza ██████████ codice ██████████

B. RAPPRESENTANTE DEL RICHIEDENTE PRESSO L'U.I.B.M.

cognome nome Dott. Marco Spadaro ed altri cod. fiscale ██████████

denominazione studio di appartenenza Studio Associato CAVATTONI-RAIMONDI

via Le dei Parioli n. 160 città Roma cap 00197 (prov) RM

C. DOMICILIO ELETTIVO destinatario

via ██████████ n. ██████████ città ██████████ cap ██████████ (prov) ████

D. TITOLO

classe proposta (sa2/cl/scl) ████ gruppo/sottogruppo ████/████

"Composti ad attività citotossica derivati della combretastatina"

ANTICIPATA ACCESSIBILITÀ AL PUBBLICO: SI NO

SE ISTANZA: DATA ████/████/████ N° PROTOCOLLO ████

E. INVENTORI DESIGNATI

cognome nome

1) Daniele SIMONI 3) Giuseppe GIANNINI

2) Romeo ROMAGNOLI 4) Domenico ALLOATTI

F. PRIORITÀ

nazione o organizzazione	tipo di priorità	numero di domanda	data di deposito	allegato S/R	SCIOLGIMENTO RISERVE
1) <u>Nessuna</u>					Data <u>████/████/████</u> N° Protocollo <u>████</u>
2) <u>██████████</u>					<u>████/████/████</u>

G. CENTRO ABILITATO DI RACCOLTA COLTURE DI MICRORGANISMI, denominazione

H. ANNOTAZIONI SPECIALI

DOCUMENTAZIONE ALLEGATA

N. es.

- | | | |
|--|-----------------------------|---|
| Doc. 1) <u>1</u> <input checked="" type="checkbox"/> PROV | a. pag. <u>149</u> | riassunto con disegno principale, descrizione e rivendicazioni (obbligatorio 1 esemplare) |
| Doc. 2) <u>10</u> <input checked="" type="checkbox"/> PROV | a. tav. <u>████</u> | disegno (obbligatorio se citato in descrizione, 1 esemplare |
| Doc. 3) <u>10</u> <input checked="" type="checkbox"/> RS | | lettera d'incarico, procura e riferimento procura generale |
| Doc. 4) <u>10</u> <input checked="" type="checkbox"/> RIS | | designazione inventore |
| Doc. 5) <u>10</u> <input checked="" type="checkbox"/> RIS | | documenti di priorità con traduzione in Italiano |
| Doc. 6) <u>10</u> <input checked="" type="checkbox"/> RIS | | autorizzazione o atto di cessione |
| Doc. 7) <u>10</u> <input checked="" type="checkbox"/> | | nominativo completo del richiedente |
| 8) <u>██████████</u> attestato di versamento, totale euro | <u>duecentonovantuno/80</u> | obbligatorio |

COMPILATO IL 11/07/2003

FIRMA DEL(I) RICHIEDENTE (I)

CONTINUA SI/NO SI

Dott. Marco SPADARO

DEL PRESENTE ATTO SI RICHIENDE COPIA AUTENTICA SI/NO SI

CAMERA DI COMMERCIO INDUSTRIA ARTIGIANATO E AGRICOLTURA - ROMA codice 581

VERBALE DI DEPOSITO NUMERO DI DOMANDA RM 2003 A 000355

L'anno duemilatre, il giorno diciotto, del mese di luglio

il(i) richiedente(i) sopraindicato(i) ha(hanno) presentato a me sottoscritto la presente domanda, corredata di n. 100 fogli aggiuntivi per la concessione del brevetto sopra riportato.

I. ANNOTAZIONI VARIE DELL'UFFICIALE ROGANTE

██████████



IL DEPOSITANTE

L'UFFICIALE ROGANTE

L'ufficiale Rogante
Giovanni Ricciuti

AGGIUNTA MODULO A

FOGLIO AGGIUNTIVO n.

di testi

ROMANDA N.

REG. A

2003 A 000355

Н

E. INVENTORI DESIGNATI

cognome nome

cognome nome

105 | Claudio PISANO

1

F. PRUDHOM

nazione o organizzazione

tipo di priorità

numero di domanda

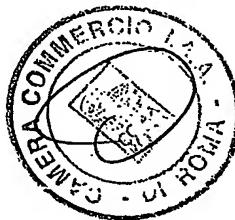
data di deposito

allegato

FIRMA DEL (I) RICHIEDENTE (I)

Dott. Marco SPADARO

SPAZIO RISERVATO ALL'UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI



PROSPETTO A

RIASSUNTO INVENZIONE CON DISEGNO PRINCIPALE, DESCRIZIONE E RIVENDICAZIONE

NUMERO DOMANDA

REG. A

NUMERO BREVETTO

DATA DI DEPOSITO 18/07/2003

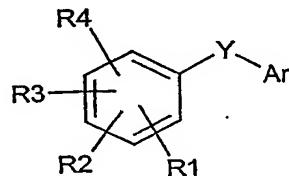
DATA DI RILASCIO 18/07/2003

D. TITOLO **RM 2003 A 000355**

"Composti ad attività citotossica derivati della combretastatina"

L. RIASSUNTO

La presente invenzione si riferisce a nuovi derivati della Combretastatina, ottenuti per sintesi totale e aventi la seguente formula generale:



nella quale i gruppi sono come definiti nella sottostante descrizione.

Detti composti, sebbene chimicamente correlati alla struttura della cis/trans-combretastatina, non sempre legano la tubulina, ma mostrano comunque un'attività citotossica di interesse nell'ambito oncologico quale anticancro e/o antiangiogenico.

M. DISEGNO



RM 2003 A 000355'

Descrizione dell'invenzione avente per titolo:

"Composti ad attività citotossica derivati della combretastatina"

a nome: SIGMA-TAU Industrie Farmaceutiche Riunite S.p.A.

di nazionalità: italiana

con sede in: Viale Shakespeare, 47 - 00144 Roma RM

Inventori: Daniele SIMONI

Romeo ROMAGNOLI

Giuseppe GIANNINI

Domenico ALLOATTI

Claudio PISANO

---000---

La presente invenzione si riferisce a nuovi derivati della Combretastatina, ottenuti per sintesi totale, a procedimenti per la loro preparazione, al loro uso come medicamenti e a composizioni che li comprendono. La strategia di sviluppo di ciascun prodotto è stata scelta tra: i) sostituzione del legame olefinico con un eterociclico del tipo isossazolo o 4,5-diidro-3-R-isossazolo oppure ii) sostituzione di uno o di entrambi gli H presenti sul legame olefinico con un fluoro e/o iii) sostituzione di un resi-duo aromatico con un residuo eterociclico aromatico tipo benzofurano, benzotiofene, indolo e indazolo, furano o tiofene, o con gruppi naftilici, con gruppi sostituenti eventualmente funzionalizzati e/o iv) sostituzione di uno o più residui metossilici sul trimetossifenile con altri sostituenti. Detti composti, sebbene chimicamente correlati alla struttura della cis/trans-combretastatina, non sempre legano la tubulina, ma mo-

strano comunque un'attività citotossica di interesse nell'ambito oncologico quale anticancro e/o antiangio-genico.

L'attività sulla tubulina non viene considerata un requisito essenziale per l'attività antitumorale; infatti, l'attività antitumorale della combretastatina è la risultante di una serie di componenti di tipo farmacodinamico e farmacocinetico.

Sfondo dell'invenzione

L'angiogenesi nell'adulto è normalmente quiescente, tuttavia essa rappresenta una funzione normale, ad esempio nella guarigione delle ferite o nella ricostruzione dell'endometrio durante il ciclo riproduttivo femminile. La risposta angiogenica è fisiologicamente stimolata quando le funzioni vascolari risultano ridotte e la perfusione dei tessuti è inadeguata.

Più in generale, si può affermare che l'angiogenesi, in condizioni fisiologiche, rappresenta un feedback positivo in risposta ad una insufficiente perfusione, o ad un ridotto apporto di ossigeno e nutrienti, come ad esempio nel caso dell'occlusione di una arteria, in situazioni di accrescimento della massa tissutale (ad esempio la neovascolarizzazione che accompagna la formazione di un tessuto muscolare); e nel caso di aumentato carico di lavoro in associazione con una aumentata richiesta di ossigeno e di nutrienti. In corso di una ischemia locale, dovuta ad una parziale o completa occlusione di un'arteria, è necessario lo sviluppo di vasi collaterali per il mantenimento della perfusione.

È noto che la crescita di un tumore primario è favorita da u-

na buona vascolarizzazione del tessuto tumorale. Un adeguato approto di ossigeno e di sostanze nutritive favorisce una veloce crescita del tumore stesso. È stato dimostrato che l'entità della neoangiogenesi costituisce un fattore molto sfavorevole nella prognosi di neoplasie (*van Hinsbergh, V.W.; Collen, A.; Koolwijk, P.; Ann. Oncol., 10 Suppl., 4:60-3, 1999; Buolamwini, J.K.; Curr., Opin., Chem., Biol., 3(4):500-9, 1999*).

La ricerca orientata verso la scoperta di chemioterapici di nuova generazione ha individuato nella tubulina un possibile bersaglio cellulare. Sostanze in grado di alterare l'aggregazione dei microtubuli sono anche in grado di inibire la proliferazione cellulare.

I microtubuli giocano un ruolo molto importante nella regolazione dell'architettura cellulare, nella divisione e nel suo metabolismo. I sistemi dei microtubuli delle cellule eucariotiche comprendono un'organizzazione dinamica di aggregazione e disaggregazione della matrice nei quali eterodimeri di tubulina polimerizzano a formare microtubuli sia in cellule neoplastiche che in cellule normali. Agenti citotossici capaci di alterare la polimerizzazione o la depolimerizzazione dei microtubuli risultano efficaci agenti chemioterapici.

La Combretastatina A-4 (CA-4), isolata da una varietà di salice africano, *Combretum caffrum* (Combretaceae) (*Pettit, G.R.; et al.; Experientia, 1989, 45, 209*) mostra un interessante potenziale antitumorale con meccanismo antitubulinico, legando fortemente

la tubulina in un sito molto simile a quello a cui si lega la colchicina (*Lin, C.N.; et al; Biochemistry, 1989, 28, 6984*). Detto legame alla tubulina previene la sua polimerizzazione nei microtubuli con effetto antimitotico. La CA-4 inibisce la crescita cellulare già a bassissime concentrazioni, dell'ordine delle nanomoli.

Il sale fosfato della CA-4 - "CA-4P" (*Pettit, G.R.; et al.; Anticancer Drug Des. 1995, 10, 299*), è idrosolubile ed è attualmente inserito in studi di sperimentazione clinica di fase II.

La capacità della combretastatina di danneggiare selettivamente la neovascolarizzazione tumorale, rende questo composto di sicuro interesse e stimola la ricerca di nuovi e più potenti composti.

Recentemente molti studi hanno dimostrato che un numero elevato di composti ad attività antiangiogenica, come CA-4P, possono inibire la neovascolarizzazione della retina in ben caratterizzati modelli murini di forme di retinopatie. Questi studi suggeriscono che sia la CA-4P, sia i nuovi derivati, potrebbero trovare utile applicazione come agenti antiangiogenici oltre che in campo oncologico anche in campo oculistico (*Griggs J.; et al.; Am. J. Pathol. 2002, 160(3), 1097-103*).

Tuttavia l'elevata potenza citotossica della combretastatina non può essere spiegata solo con l'effetto antitubulinico. Esistono composti di struttura analoga che, pur mostrando una elevata citotoxicità, non hanno un altrettanto elevata attività antitubulinica.

Oltre agli aspetti di farmacocinetica, ci sono molti aspetti di



farmacodinamica ancora oggetto di approfondimento e al momento non ci sono in letteratura informazioni che forniscano una risposta definitiva (*Le Wang; et al.; J. Med. Chem., 2002, 45, 1697-1711*).

Dal punto di vista chimico, è noto che la distanza fra i due anelli aromatici della combretastatina, colchicina o loro derivati rappresenta un requisito immodificabile di questa classe di composti per le loro proprietà antitubuliniche (*McGown, A.T.; et al.; a) Bioorg. Med. Chem. Lett., 1988, 8(9), 1051-6; b) Bioorg. Med. Chem. Lett. 2001, 11(1), 51-4*).

La sostituzione del doppio legame con un residuo indoliloxazolino (*Qun Li, Q.; et al.; Bioorg. Med. Chem. Lett., 2002, 12(3), 465-9*) ha portato a un derivato della combretastatina, A-289099 (dove anche un anello aromatico veniva sostituito con un residuo N-Me-indolico), con un'attività antitumorale paragonabile a quella del prodotto di riferimento.

È altresì noto in campo neoplastico che una tappa fondamentale nella biologia della cellula tumorale è l'acquisizione della capacità di dare metastasi.

Le cellule tumorali che metastatizzano hanno la capacità di perdere aderenza alle strutture circostanti, di invadere i vasi ematici e linfatici e colonizzare altri tessuti a distanza dove continuano a riprodursi.

La metastatizzazione rappresenta un evento critico anche nella storia clinica della malattia, essendo la principale causa della morte per cancro. Essa è strettamente associata e favorita dalla

presenza, nella sede del tumore o nelle zone adiacenti, di tessuto vascolare.

Infatti, la migrazione della cellula neoplastica attraverso le strutture circostanti consente alle cellule di raggiungere i vasi ematici intratumorali, sia preesistenti, sia formatisi per neoangiogenesi, e di guadagnare il circolo ematico (*Ray, J.M.; Stetler-Stevenson, W.G.; Eur. Respir. J., 1994, 7(11):2062-72; Stetler-Stevenson, W.G.; Liotta, L.A.; Kleiner D.E. Jr.; FASEB J., 1993, 7(15):1434-41*).

Nel distretto vascolare tumorale la presenza di comunicazioni tra vasi linfatici ed ematici consente alle cellule neoplastiche di muoversi in entrambi i torrenti vascolari.

Recenti studi hanno evidenziato una relazione diretta tra l'angiogenesi e la patologia artritica (*Koch, A.E.; Arthritis and Rheumatism, 1998, 41:951-962*). In particolare, è stato dimostrato che la neovascolarizzazione delle cartilagini articolari ha un ruolo cruciale nella formazione del pannus e nella progressione dell'artrite. Una cartilagine normale non ha vasi sanguigni, mentre il fluido sinoviale di pazienti artritici contiene un fattore stimolatore dell'angiogenesi prodotto da cellule endoteliali (ESAF).

La presenza di questo fattore è associata con la vascolarizzazione e la degradazione della cartilagine.

Ulteriori patologie sono legate ad un'alterata angiogenesi.

È stato riscontrato che la retinopatia diabetica (*Histol. Histopathol., 1999; 14(4):1287-94*), la psoriasi (*Br. J. Dermatol., 1999*

141(6):1054-60), la infiammazione cronica e la arteriosclerosi (*Planta Med.*, 1998; 64(8):686-95) hanno come causa favorente la neovascolarizzazione dei tessuti affetti.

Il controllo della neovascolarizzazione rappresenta quindi uno degli elementi fondamentali per il controllo e la cura di tali patologie.

Nonostante i progressi fatti negli ultimi anni nel settore dei nuovi farmaci dotati di attività antiangiogenica, questo settore della ricerca è considerato da molti esperti nel campo della medicina come uno dei più promettenti per la scoperta di nuovi farmaci per il trattamento di patologie caratterizzate da una alterata angiogenesi, ed in particolare dei tumori.

Infatti, per queste patologie è ancora molto sentito il bisogno di nuovi composti che presentino minori effetti collaterali, e che siano capaci di bloccare o interferire con gli alterati meccanismi che sono alla base delle patologie sopra citate, e ne consentano quindi la loro cura.

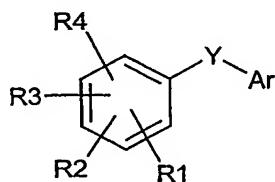
È stato ora sorprendentemente trovato che operando delle modifiche sia sul doppio legame olefinico che sugli anelli aromatici della combretastatina, ne risultano i composti di formula generale (I), descritti in seguito, con proprietà antitubulinica e/o citotossica e che sono agenti utili per il trattamento di patologie causate da un'alterata angiogenesi e di patologie tumorali.

In modo del tutto inatteso, i derivati della presente invenzione mostrano come anche in presenza di una bassa attività antitumorale

bulinica, o addirittura in sua assenza, l'attività citotossica possa ancora essere elevata.

Riassunto dell'invenzione

Sono un oggetto della presente composti di formula (I)



nella quale:

i vari R_1 , R_2 , R_3 e R_4 , che possono essere uguali o diversi fra loro, sono H, OH, OPO_3Na_2 , OMe, NO_2 , F, Cl; Br

Y è un gruppo scelto fra

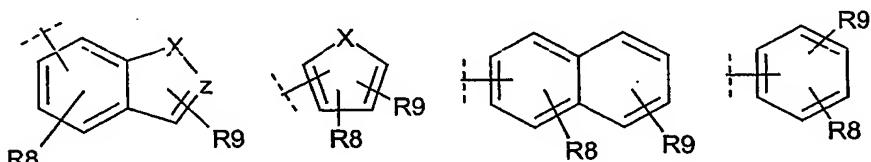


vv : cis o trans

R_5 e R_6 , che possono essere uguali o diversi fra loro, sono H, oppure alogeno, ma non possono essere contemporaneamente H;

R_7 è H, OMe, SO_2Ph ;

Ar è un gruppo scelto fra:



R₈ e R₉, che possono essere uguali o diversi fra loro, sono H, OH, OMe, OPO₃Na₂, NH₂, NHR₁₀, NO₂, alogeno;

R₁₀ è C₁-C₄ alchile o acile;

X è O, S, N, NR₁₁;

R₁₁ è H, CH₃, CH₂Ph;

Z è CH, N;

i loro enantiomeri, diastereoisomeri, le rispettive miscele e i loro sali farmaceuticamente accettabili.

L'invenzione è riferita ai composti di formula (I) ed al loro uso in campo medico.

Sono un ulteriore oggetto della presente invenzione composizioni farmaceutiche comprendenti come principio attivo un composto di formula (I) ed almeno un eccipiente e/o diluente farmaceuticamente accettabile.

È un ulteriore oggetto della presente invenzione l'uso di un composto di formula (I) per la preparazione di un medicamento avente attività antitumorale di tipo citotossica.

È un ulteriore oggetto della presente invenzione l'uso di un composto di formula (I) per la preparazione di un medicamento avente attività antitumorale di tipo antiangiogenica.

È un ulteriore oggetto della presente invenzione l'uso di composti di formula (I) per la preparazione di un medicamento utile per la prevenzione e riduzione delle metastasi tumorali.

È un ulteriore oggetto della presente invenzione l'uso di composti di formula (I) per la preparazione di un medicamento ad

attività antitumorale, in cui la patologia tumorale è scelta nel gruppo che consiste di: sarcoma, carcinoma, carcinoide, tumore osseo, tumore neuroendocrino, leucemia linfoide, leucemia mieloide, leucemia monocitica, leucemia megacariocitica o malattia di Hodgkin.

È un ulteriore oggetto della presente invenzione l'uso di composti di formula (I) per la preparazione di un medicamento per il trattamento di patologie legate ad una alterata angiogenesi, in cui la patologia è scelta nel gruppo consistente di: patologia artritica, tumori, metastatizzazione, retinopatia diabetica, psoriasi, infiammazione cronica, e arteriosclerosi.

Descrizione dettagliata dell'invenzione

Secondo la presente invenzione, sali farmaceuticamente accettabili sono tutti quei sali che l'esperto del settore sarà in grado di preparare, senza che l'acido o la base utilizzata diano luogo a effetti indesiderati, quando detti sali sono impiegati come medicamenti.

Composti particolarmente preferiti sono:

2-metossi-5-[3-metossi-5-(3,4,5-trimetossi-fenil)-4,5-diidro-4-isossazolil]-fenolo - ST1996;

2-metossi-5-[3-metossi-4-(3,4,5-trimetossi-fenil)-4,5-diidro-5-isossazolil]-fenolo - ST1998;

5-[3-benzensulfonil-4-(3,4,5-trimetossi-fenil)-4,5-diidro-4-isossazolil]-2-metossi-fenolo - ST1995;

5-[3-benzensulfonil-5-(3,4,5-trimetossi-fenil)-4,5-diidro-5-isossazolil]-2-metossi-fenolo – ST1997;

2-metossi-5-[3-(3,4,5-trimetossi-fenil)-4,5-diidro-5-isossazolil]-fenolo ST1999;

2-metossi-5-[5-(3,4,5-trimetossi-fenil)-4,5-diidro-3-isossazolil]-fenolo ST2001;

2-metossi-5-[5-(3,4,5-trimetossi-fenil)-3-isossazol]-fenolo ST2002;

cis-6-[2-(3,4,5-trimetossi-fenil)-vinil]-benzo[b]tiofen-4-ol ST2151;

trans-6-[2-(3,4,5-trimetossi-fenil)-vinil]-benzo[b]tiofen-4-ol ST2152;

cis-4-metossi-6-[2-(3,4,5-trimetossi-fenil)-vinil]-benzo[b]tiofene - ST2049;

trans-4-metossi-6-[2-(3,4,5-trimetossi-fenil)-vinil]-benzo[b]tiofene - ST2050:

cis-6-[2-(3,4,5-trimetossi-fenil)-vinil]-benzofuran-4-ol ST2179;

trans-6-[2-(3,4,5-trimetossi-fenil)-vinil]-benzofuran-4-ol ST2180;

cis-4-metossi-6-[2-(3,4,5-trimetossi-fenil)-vinil]-benzofurano ST2051;

trans-4-metossi-6-[2-(3,4,5-trimetossi-fenil)-vinil]-benzofurano - ST2052;

cis-5-[2-(3,4,5-trimetossi-fenil)-vinil]-benzo[b]tiofen-7-ol

ST2487;

trans-5-[2-(3,4,5-trimetossi-fenil)-vinil]-benzo[b]tiofen-7-ol

ST2488;

cis-5-[2-(3,4,5-trimetossi-fenil)-vinil]-benzofuran-7-ol

ST2491;

trans-5-[2-(3,4,5-trimetossi-fenil)-vinil]-benzofuran-7-ol

ST2492;

cis-1-metossi-3-[2-(3,4,5-trimetossifenil)-vinil]-naftalene

ST2053;

metossi-3-[2-(3,4,5-trimetossifenil)-vinil]-naftalene - ST2054;

cis-7-metossi-1-metil-5-[2-(3,4,5-trimetossifenil)-vinil]-1H-indazolo - ST2055;

trans-7-metossi-1-metil-5-[2-(3,4,5-trimetossifenil)-vinil]-1H-indazolo - ST2056;

2-nitro-5-[2-(3,4,5-trimetossi-fenil)-vinil]-tiofene - ST2057;

2-nitro-5-[2-(3,4,5-trimetossi-fenil)-vinil]-furano - ST2058;

cis-3-[2-(3,4,5-trimetossi-fenil)-vinil]-naftalen-1-ol - ST2181;

trans-3-[2-(3,4,5-trimetossi-fenil)-vinil]-naftalen-1-ol

ST2182;

disodio 6[(Z)-2-(3,4,5-trimetossifenil)etenil]-1-benzotiofen-4-olo 4-O-fosfato - ST2495;

disodio 6[(Z)-2-(3,4,5-trimetossifenil)etenil]-1-benzofuran-4-olo 4-O-fosfato, - ST2496.



I composti descritti in questa invenzione sono stati preparati seguendo gli schemi sintetici 1-7.

In particolare, i composti di formula (I) nei quali Y rappresenta l'anello isossazolinico e R₇ è un residuo fenilsolfonico, ad esempio i composti denominati ST1995 e ST1997, sono stati preparati secondo lo schema 1 attraverso la reazione di cicloaddizione [3+2]-dipolare del nitrilosido generato dal nitroderivato 2 sulla combretastatina opportunamente protetta 1. La rimozione del gruppo protettore, quale terbutil-dimetilsilile porta ai desiderati ST1995 e ST1997.

Nel caso in cui il gruppo R₇ sia metossi, ad esempio i composti denominati ST1996 e ST1998, i composti sono invece ottenuti attraverso la sostituzione del gruppo fenilsolfonico, come nei precedenti composti ST1995 e ST1997, mediante la reazione con sodiometossilato.

I derivati isossazolinici regioisomeri, ad esempio ST1999 e ST2001, sono stati preparati seguendo gli schemi sintetici 2 e 3 attraverso le reazioni di cicloaddizione [3+2]-dipolare tra i nitrilosidi generati dalle ossime 5 e 10 e le componenti alcheniche 6 e 9 rispettivamente. La rimozione del gruppo protettore terbutil-dimetilsilile porta ai prodotti desiderati.

I derivati isossazolici regioisomeri, ad esempio ST2000 e ST2002, sono stati a loro volta preparati attraverso la ossidazione, mediata dal biossido di manganese, delle isossazoline descritte sopra opportunamente protette seguendo gli schemi sintetici 2 e 3.

La rimozione del gruppo protettore, quale terbutil-dimetilsilile porta ai prodotti desiderati.

I composti di formula (I) nei quali Ar è un residuo benzotiofenico o benzofuranico, ad esempio ST2151, ST2152, ST2049, ST2050, ST2179, ST2180, ST2051, ST2052, ST2487, ST2488, ST2491 e ST2492, sono stati ottenuti seguendo le procedure sintetiche descritte negli schemi di sintesi 4 e 5.

In particolare, la reazione di Wittig tra le aldeidi **17a-d** e il sale di fosfonio **18**, seguita da rimozione del gruppo protettore terbutil-dimetilsilile, ha permesso di ottenere i derivati desiderati (schema 4). Allo stesso modo, la reazione di Wittig tra le aldeidi **26a,b** e il sale di fosfonio **18**, seguita da rimozione dell'opportuno gruppo protettore, quale terbutil-dimetilsilile, ha permesso di ottenere i derivati desiderati, ad esempio ST2487, ST2488, ST2491 e ST2492 (schema 5).

Con una metodica simile sono pure stati preparati i derivati nei quali Ar è un residuo naftalenico, indazolico, nitrotiofenico e nitrofuranico, ad esempio ST2053, ST2054, ST2055, ST2056, ST2181, ST2057, ST2058, ST2182 (schema 6) attraverso la reazione di Wittig tra le opportuni aldeidi **29a-d** e il sale di fosfonio **18**.

Infine, i composti di formula (I), nei quali R₈ o R₉ sono un gruppo fosfato, ad esempio ST2495 e ST2496, sono stati preparati seguendo la procedura sintetica descritta nello schema 7 a partire dai corrispondenti derivati fenolici, ad esempio ST2151 e ST2179.

In campo medico è noto l'uso di protocolli terapeutici che prevedono la somministrazione di più farmaci antitumorali in contemporanea o in sequenza tra loro, ad esempio in funzione della sincronizzazione dei cicli cellulari, ben noti agli esperti di oncologia.

La necessità di somministrare più farmaci antitumorali in protocolli terapeutici è motivata dal fatto che essi agendo a livelli metabolici differenti favoriscono, in alcuni casi la remissione completa del tumore, in altri casi allungano la vita e/o ne migliorano la qualità, nei pazienti trattati. L'associazione in accordo con la presente invenzione si presta ad essere utilizzata in concomitanza con uno o più farmaci antitumorali noti, per la cura dei tumori.

È pertanto ulteriore oggetto della presente invenzione l'utilizzo dei composti di formula (I) sia da soli che in associazione con altri farmaci antiblastici noti, scelti nel gruppo consistente di: agenti alchilanti; inibitori delle topoisomerasi; antitubulinici; intercalanti; antimetaboliti; prodotti naturali quali alcaloidi della Vinca, epipodofillotossine, antibiotici, enzimi, taxani e vaccini antitumorali.

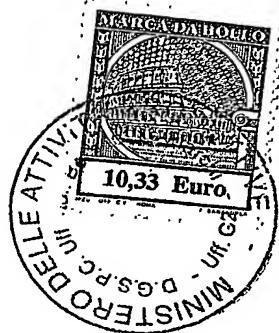
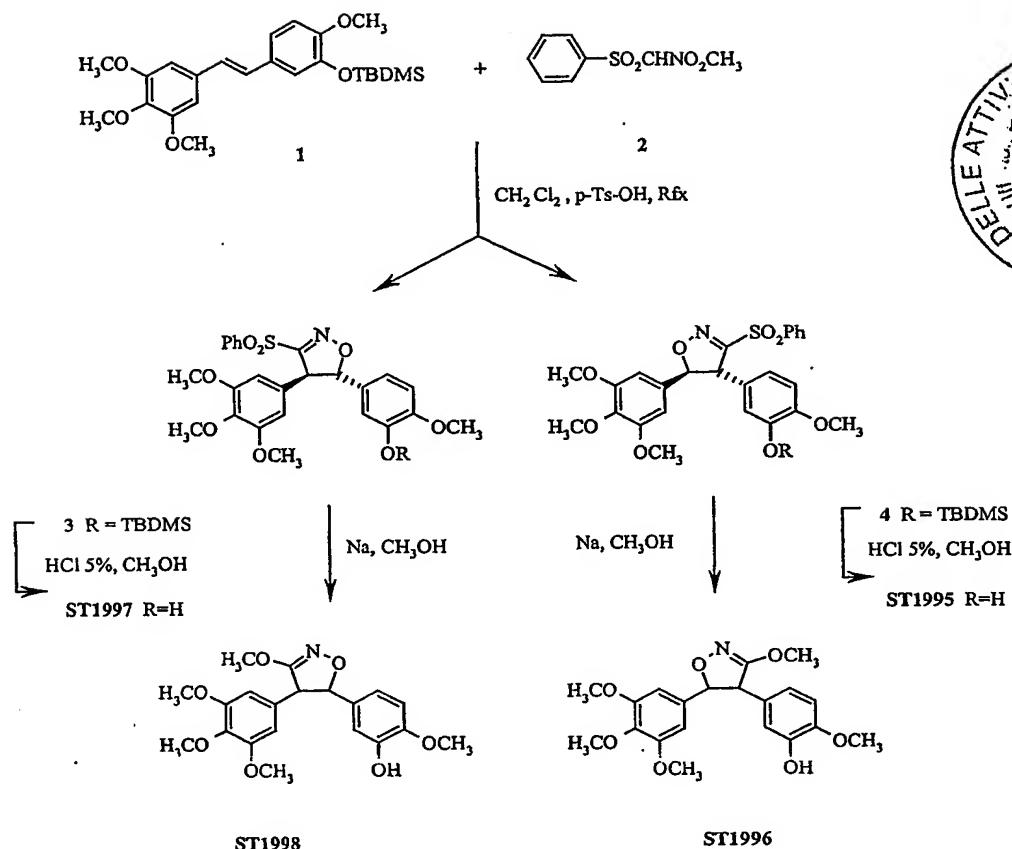
I seguenti esempi illustrano l'invenzione.

Esempio 1

Preparazione di ST1995, ST1996, ST1997, ST1998

Questi composti vengono preparati seguendo lo schema di sintesi N° 1 di seguito riportato

SCHEMA 1



Preparazione delle isossazoline 3 e 4

Al pallone contenente l'estere nitronico 2 preparato secondo la procedura di Wade et al (*J. Org. Chem.* 1981, **46**, 765-770) viene addizionato l'alchene 1 (600 mg, 1,4 mmol) sciolto in CH_2Cl_2 (6 ml) e acido *p*-toluenosolfonico monoidrato (270 mg, 1,4 mmol). La reazione viene posta a ricadere per 30 min. in atmosfera di argon. Dopo aver riportato la soluzione a temperatura ambiente viene addizionato CH_2Cl_2 (15 ml), si eseguono lavaggi con NaOH 5% (10 ml), H_2O (10 ml) e salamoia (10 ml). La fase organica, anidrificata su Na_2SO_4 , viene evaporata a pressione ridotta. La purificazione per

via cromatografica del grezzo ha permesso di ottenere i prodotti 3 e 4 con una resa complessiva del 20%.

Preparazione di ST1996 e ST1998

Na metallico (130 mg, 0,6 mmol) viene sciolto in MeOH (10 ml), la soluzione così ottenuta viene aggiunta all'opportuno fenil-sulfonil derivato 3, 4 (0,15 mmol) e la reazione viene lasciata a temperatura ambiente per 6 h.

Dopo aver concentrato il metanolo e diluito con CH₂Cl₂ (15 ml), si eseguono estrazioni con H₂O (8 ml) e salamoia (8 ml). La soluzione organica, anidrificata su Na₂SO₄, viene evaporata a pressione ridotta. Il grezzo ottenuto viene purificato per via cromato-grafica.

2-Metossi-5-[3-metossi-5-(3,4,5-trimetossi-fenil)-4,5-diidro-4-isossazolil]-fenolo – ST1996

Resa: 70%. P.f. 160-162 °C; ¹HNMR (CDCl₃) δ 3.84 (s, 9H), 3.91 (s, 6H), 4.19 (d, 1H, J = 9.2 Hz), 5.38 (d, 1H, J = 9.3 Hz), 5.69 (s, 1H), 6.54 (s, 2H), 6.69-6.74 (m, 1H), 6.84-6.88 (m, 2H).

2-Metossi-5-[3-metossi-4-(3,4,5-trimetossi-fenil)-4,5-diidro-5-isossazolil]-fenolo – ST1998

Resa: 65%. Olio. ¹HNMR (CDCl₃) δ 3.86 (s, 9H), 3.91 (s, 6H), 4.14 (d, 1H, J = 9.1 Hz), 5.40 (d, 1H, J = 9.1 Hz), 5.68 (br, 1H), 6.43 (s, 2H), 6.84 (s, 2H), 6.95 (s, 1H).

Preparazione di ST1995, ST1997

L'opportuno silil derivato (0,1 mmol) 3,4 viene sciolto in MeOH (10 ml), alla soluzione vengono aggiunti H₂O (1/2 ml) e HCl

5% (10 gocce). Dopo una notte a t.a. il metanolo viene evaporato, il grezzo ripreso con CH₂Cl₂ (15 ml), viene lavato con H₂O (10 ml) e salamoia (10 ml). La soluzione organica anidrificata ed evaporata a secchezza produce un grezzo che viene purificato per cromatografia su gel di silice.

5-[3-Benzensulfonil-4-(3,4,5-trimetossi-fenil)-4,5-diidro-4-isossazolil]-2-metossi-fenolo – ST1995

Resa: 95%. Olio. ¹HNMR (CDCl₃) δ 3.67 (s, 6H), 3.82 (s, 3H), 3.91 (s, 3H), 4.58 (d, 1H, J = 6.5 Hz), 5.56 (d, 1H, J = 6.5 Hz), 5.62 (br, 1H), 6.15 (s, 2H), 6.79-6.84 (m, 3H), 7.37-7.43 (m, 2H), 7.55 (d, 1H, J = 8.1 Hz), 7.61-7.65 (m, 2H).

5-[3-Benzensulfonil-5-(3,4,5-trimetossi-fenil)-4,5-diidro-5-isossazolil]-2-metossi-fenolo – ST1997

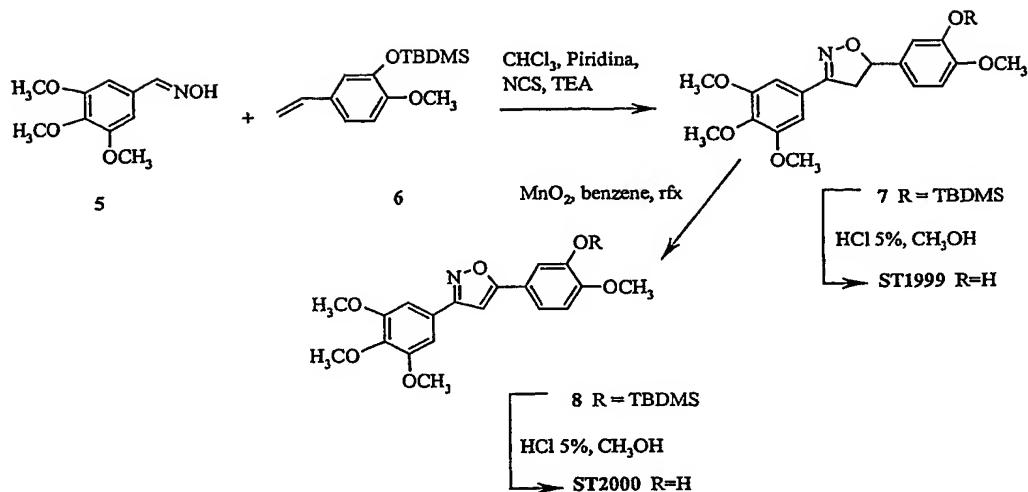
Resa: 85%. Olio. ¹HNMR (CDCl₃) δ 3.82 (s, 6H), 3.84 (s, 3H), 3.89 (s, 3H), 4.56 (d, 1H, J = 6.6 Hz), 5.55 (d, 1H, J = 6.5 Hz), 5.57 (br, 1H), 6.39 (s, 2H), 6.56-6.58 (m, 1H), 6.62 (d, 1H, J = 2.1 Hz), 6.71 (d, 1H, J = 8.1 Hz), 7.37-7.44 (m, 2H), 7.55-7.59 (m, 1H), 7.66-7.72 (m, 2H).

Esempio 2

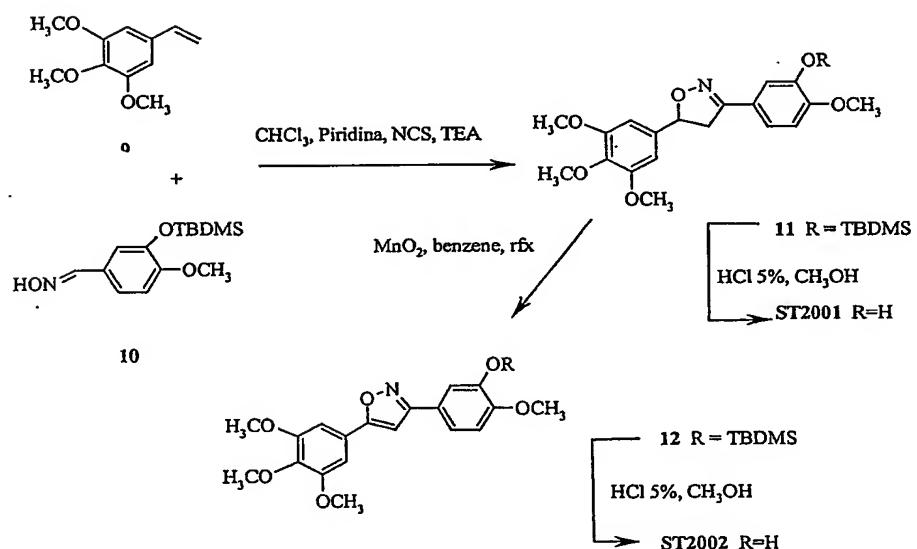
Preparazione di ST1999, ST2000, ST2001, ST2002

Questi composti vengono preparati seguendo gli schemi di sintesi N° 2,3 di seguito riportati

SCHEMA 2



SCHEMA 3



Procedura generale per la preparazione di 7 e 11

In un pallone contenente CH₃Cl anidro (7 ml) viene aggiunta NCS (1 mmol, 133 mg), piridina (0,1 mmol, 7,9 mg, 8 µl) e l'opportuna ossima 5, 10 (1 mmol). La reazione viene posta in agitazione a 50°C per 1h. A temperatura ambiente viene successivamente addizionato il corrispondente alchene 6, 9 (1,1 mmol) e molto lentamente viene gocciolata TEA (1,5 mmol, 152 mg, 0,2 ml). La miscela

di reazione viene lasciata in agitazione per 2h. Successivamente si addiziona CH₂Cl₂ (20 ml), si eseguono lavaggi con H₂O (15 ml), HCl 2,5% (10 ml), H₂O (10 ml) e salamoia (10 ml). La fase organica viene anidrificata su Na₂SO₄ e concentrata a pressione ridotta, il grezzo di reazione viene purificato per via cromatografica per dare l'isossazolina desiderata. Resa della cicloaddizione 70-75%.



Procedura generale per la preparazione degli isossazoli 8

12

L'isossazolina 7, 11 (50 mg, 0,1 mmol) viene sciolta in benzene (15 ml), alla soluzione viene aggiunto MnO₂ (450 mg, 5,17 mmol) e la miscela viene posta a ricadere con Dean-Stark per 6h sotto forte agitazione.

La miscela di reazione, riportata a temperatura ambiente, viene filtrata su celite e il filtrato concentrato a pressione ridotta.

Il grezzo così ottenuto viene purificato per cromatografia per dare il derivato isossazolico. Resa dell'ossidazione 80-85%.

I composti finali ST1999, ST2000, ST2001, ST2002 vengono ottenuti dai corrispondenti precursori 7, 8, 11, 12 attraverso desililazione operata come descritto sopra per ST1997, ST1995.

2-Metossi-5-[3-(3,4,5-trimetossi-fenil)-4,5-diidro-5-isossazolil]-fenolo – ST1999

Resa: 85%, Olio, ¹H-NMR (CDCl₃) δ: 3.30 (dd, 1H, J = 8.2 Hz, 16.2 Hz), 3.74 (dd, 1H, J = 10.9 Hz, 16.3 Hz), 3.89 (s, 12H), 5.65 (dd, 1H, J = 8.2 Hz, 10.8 Hz), 5.63 (br, 1H), 6.85-6.95 (m, 5H).

2-Metossi-5-[3-(3,4,5-trimetossi-fenil)-5-isossazolil]-fenolo – ST2000

Resa: 95%, P.f. 183-185°C, 1H-NMR (CDCl₃) δ: 3.91 (s, 3H), 3.95 (s, 3H), 3.96 (s, 9H), 5.80 (br, 1H), 5.82 (s, 1H), 6.94 (d, 1H, J = 8.9 Hz), 7.08 (s, 2H), 7.37- 7.41 (m, 2H).

2-Metossi-5-[5-(3,4,5-trimetossi-fenil)-4,5-diidro-3-isossazolil]-fenolo – ST2001

Resa: 90%, P.f. 128-130 °C, 1H-NMR (CDCl₃) δ: 3.30 (dd, 1H, J = 8.4 Hz, 16.2 Hz), 3.75 (dd, 1H, J = 10.4 Hz, 16.4 Hz), 3.86 (s, 3H), 3.90 (s, 6H), 3.96 (s, 3H), 5.65 (dd, 1H, J = 8.2 Hz, 10.2 Hz), 5.68 (br, 1H), 6.62 (s, 2H), 6.90 (d, 1H, J = 8.1 Hz), 7.22 (dd, 1H, J = 2.1 Hz, 8.2 Hz), 7.28 (d, 1H, J = 2.1 Hz).

2-Metossi-5-[5-(3,4,5-trimetossi-fenil)-3-isossazolil]-fenolo – ST2002

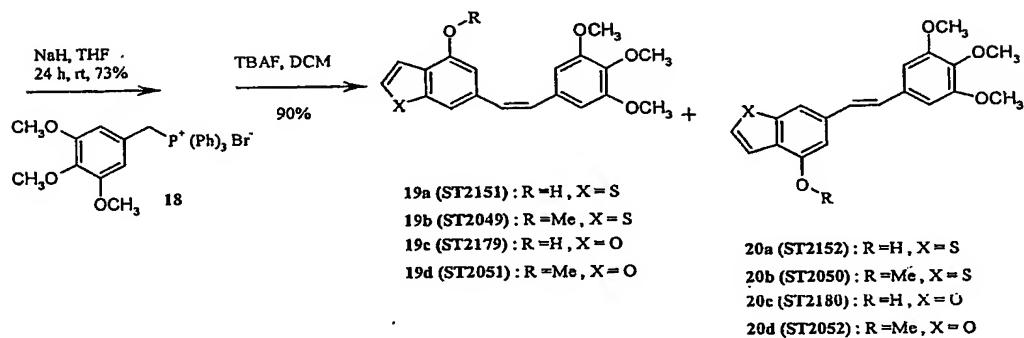
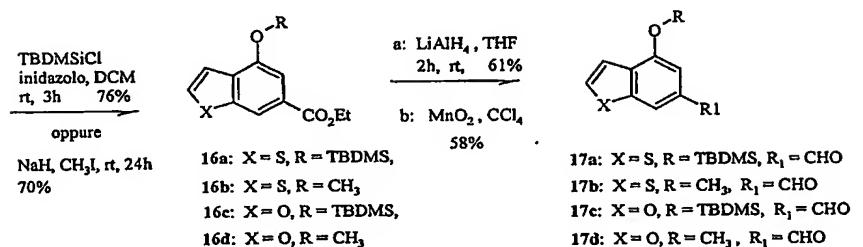
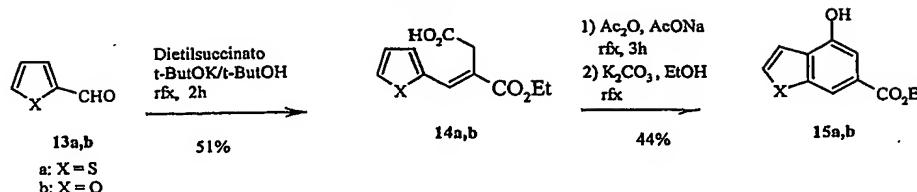
Resa: 80%, P.f. 205-206 °C, 1H-NMR (CDCl₃) δ: 3.90 (s, 3H), 3.95 (s, 9H), 5.80 (br, 1H), 6.70 (s, 1H), 6.93 (d, 1H, J = 8.3 Hz), 7.04 (s, 2H), 7.36 (d, 1H, J = 2 Hz), 7.43 (dd, 1H, J = 1.9 Hz, 8.2 Hz).

Esempio 3

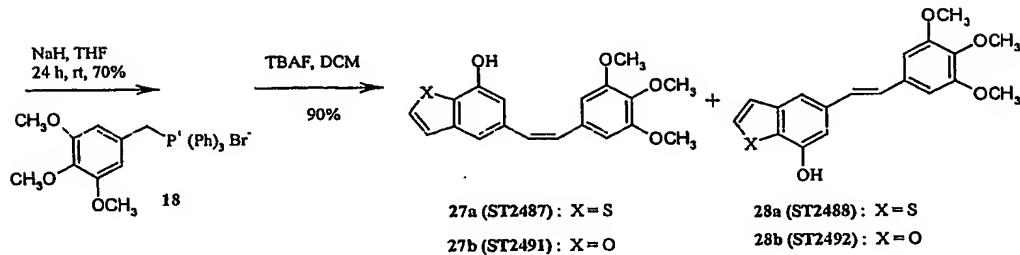
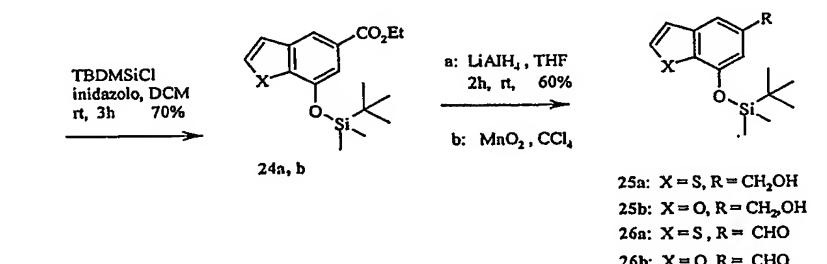
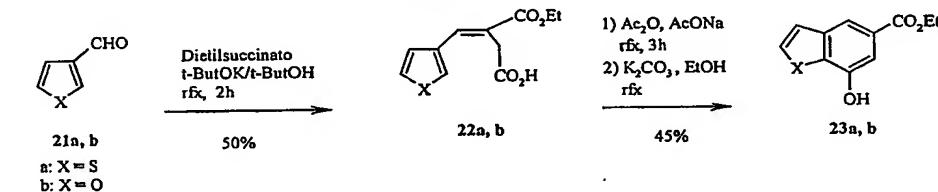
Preparazione di ST2151, ST2152, ST2179, ST2180, ST2049, ST2050, ST2051, ST2052, ST2487, ST2488, ST2491, ST2492.

Questi composti vengono preparati seguendo gli schemi di sintesi N°4, 5 di seguito riportati.

SCHEMA 4



SCHEMA 5



Procedura generale per ottenere 15a,b e 23a,b

Ad una sospensione di t-BuOK (17 g.; 150 mmoli, 3 equiv.) in t-BuOH (50 mL) viene aggiunta una miscela di aldeide 13a-b, 21a-b (50 mmoli) in dietil succinato (32 mL, 225 mmoli, 4.5 mmoli). Si pone a riflusso per 45 minuti. Trascorso questo intervallo di tempo si aggiungono le stesse quantità di t-BuOK, t-BuOH e dietil succinato e si lascia a riflusso per altri 45 minuti. Si porta poi a t.a., e si acidifica (pH 2) con una soluzione acquosa di HCl (20% v/v). La miscela viene diluita con HCl al 5% (100 mL) ed estratta con EtOAc (3x100 mL). La fase organica viene quindi estratta con una soluzione acquosa al 10% in Na₂CO₃ (4x50 mL); le fasi acquose riunite vengono lavate con Et₂O (50 mL) e successivamente acidificate a pH=2 con HCl (20% v/v). La fase acquosa viene infine estratta con EtOAc (4x50 mL) e gli estratti organici riuniti e anidrificati vengono concentrati a pressione ridotta fornendo con resa quantitativa l'acido-estere 14a-b, 22a-b. Il prodotto grezzo (14a-b, 22a-b) ottenuto dalla precedente reazione (50 mmoli) viene solubilizzato in una miscela costituita da anidride acetica (100 mL) e CH₃CO₂ Na an. (200 mmoli, 4 equiv.). La soluzione così ottenuta viene portata all'ebollizione per 5 ore, trascorse le quali si evapora a secchezza. Il residuo viene ripreso con una soluzione acquosa (75 mL) di Na₂CO₃ (15%) ed estratto con EtOAc (3x50 mL). Gli estratti organici riuniti vengono lavati con salamoia (50 mL), anidrificati (Na₂SO₄) e purificati per flash-cromatografia su gel di silice.

Una sospensione di acetilderivato (10 mmoli) e K_2CO_3 an. (1.4 g., 10 mmoli) in EtOH (20 mL) viene posta a ricadere per 18 ore, trascorse le quali si filtra ed il filtrato evaporato a secchezza. Il residuo viene solubilizzato in acqua (20 mL), la fase acquosa acidificata ($pH=2$) con HCl (10% v/v) ed in seguito estratta con EtOAc (3x20 mL). Gli estratti organici riuniti vengono anidrificati (Na_2SO_4), concentrati a pressione ridotta e purificati per flash-cromatografia su gel di silice.

15a: Solido marrone, p.f.=134-136°C; 15b: Solido bianco, p.f.=105-107°C; 23a: Solido marrone, p.f.=145-147°C; 23b: Solido bianco, p.f.=165-167°C.

Preparazione di 16b, 16d

Ad una sospensione costituita dal composto 15a,b (5 mmoli) e K_2CO_3 an. (5 mmoli, 690 mg, 1 equiv.) in THF (20 mL) viene aggiunto Me_2SO_4 (5 mmoli, 630 mg, 0.48 mL) e la risultante soluzione portata all'ebollizione per 8 h. Trascorso questo tempo si filtra, si evapora a secchezza il filtrato ed il residuo ripreso con una miscela di EtOAc (20 mL) ed acqua (5 mL). La fase organica viene lavata con salamoia (5 mL), anidrificata e concentrata sotto vuoto, il risultante residuo viene purificato per flash-cromatografia su gel di silice. I derivati 16b,d vengono ottenuti come oli incolori.

Preparazione di 16a,c e 24a,b

Ad una soluzione di fenolo 15a-b, 23a-b (3 mmoli) in DCM (10 mL) si aggiunge TBDMSCl (3.6 mmoli, 1.2 equiv., 550 mg) e imidazolo (7.5 mmoli, 2.5 equiv., 510 mg). Si lascia a t.a. per 18 ore,



trascorse le quali si diluisce con DCM (10 mL), si lava con acqua (5mL), salamoia (5 mL) e si anidrifica la fase organica. Dopo aver concentrato, il residuo viene purificato per flash-cromatografia su gel di silice. I derivati 16a, 16c, 24a e 24b vengono ottenuti come oli incolori

Preparazione di 17a-d, 26a,b

L'appropriato estere 16a-d, 24a,b (2 mmoli) sciolto in THF (5 mL) viene addizionato goccia a goccia a 0 °C ad una sospensione di LiAlH₄ (3 mmoli, 114 mg, 1.5 equiv.) in 10 mL di THF. Terminata l'aggiunta, si lascia la reazione per ulteriori 30' a 0°C e quindi per 2 ore a t.a.. Si raffredda di nuovo la reazione con un bagno di acqua e ghiaccio, si decompone l'eccesso di LiAlH₄ con una soluzione acquosa di soda (5%), si filtra su celite, si riprende il filtrato con EtOAc (15 mL) ed acqua (5 mL). La fase organica viene quindi lavata con salamoia (5 mL), anidrificata (Na₂SO₄) ed evaporata a secchezza. Il prodotto ottenuto viene purificato per flash-cromatografia su gel di silice. Ad una soluzione del derivato alcolico ottenuto dalla cromatografia (1 mmole) in CCl₄ (25 mL) viene aggiunto MnO₂ (1.1 mmole, 1.1 equiv.). Dopo 2 ore a t.a. si filtra, il filtrato viene evaporato a secchezza ed utilizzato senza ulteriori purificazioni per la reazione successiva.

Preparazione di ST2151, ST2152, ST2179, ST2180, ST2049,
ST2050, ST2051, ST2052

Ad una soluzione di aldeide 17a-d, 26a,b (2 mmoli) in 10 mL di THF an. viene aggiunto il sale di fosfonio 18 (2 mmoli, 1.05 g., 2

equiv.). La sospensione così ottenuta viene raffreddata con un bagno di acqua e ghiaccio, in seguito si aggiunge NaH (50% in sospensione minerale, 2.2 mmoli, 1.1 equiv., 110 mg). Si lascia agitare a t.a. per 24 ore, si filtra su di un letto di celite lavando con THF. Si evapora, si riprende il residuo con DCM (15 mL) e si lava la fase organica con acqua (5 mL), salamoia (5 mL), si anidrifica e si evapora di nuovo.

Per i derivati in cui l'ossidrile fenolico è protetto come TBD MS etere, il residuo viene sciolto in DCM (10 mL), si aggiunge TB AF (6 mmoli, 3 equiv.). Dopo 1 ora a t.a., si diluisce con DCM (5 mL), si lava con acqua (3x5 mL), salamoia (5 mL) e si anidrifica (Na_2SO_4). Dopo aver concentrato, il residuo viene purificato per flash cromatografia su gel di silice.

Per la purificazione di questi prodotti si effettua una cromatografia su gel di silice si usa un gradiente di eluizione del seguente tipo: EtOAc-etero di petrolio 1-9, 2-8, 3-7.

cis-6-[2-(3,4,5-trimetossi-fenil)-vinil]-benzo[b]tiofen-4-ol —

ST2151:

Solido bianco, p.f. 145-147°C; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 3.64 (s, 6H), 3.83 (s, 3H), 5.34 (s, 1H), 6.50 (d, $J=12.6$ Hz, 1H), 6.54 (s, 1H), 6.60 (d, $J=12.6$ Hz, 1H), 6.69 (s, 1H), 7.27 (s, 1H), 7.32 (d, $J=5.6$ Hz, 1H), 7.41 (d, $J=5.6$ Hz, 1H), 7.42 (s, 1H).

trans-6-[2-(3,4,5-trimetossi-fenil)-vinil]-benzo[b]tiofen-4-ol —

ST2152:

Solido giallo, p.f.=67-69°C; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 3.88 (s, 6H), 3.92 (s, 3H), 5.50 (s, 1H), 6.74 (s, 2H), 6.93 (s, 1H), 7.03 (s, 2H), 7.35 (d, $J=5.2$ Hz, 1H), 7.43 (d, $J=5.2$ Hz, 1H), 7.56 (s, 1H).

cis-4-Metossi-6-[2-(3,4,5-trimetossi-fenil)-vinil]-benzo[b]tiofene – ST2049:

Olio giallo. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 3.65 (s, 6H), 3.76 (s, 3H) 3.84 (s, 3H), 6.55 (s, 1H), 6.58 (d, $J=11.2$ Hz, 1H), 6.64 (d, $J=11.2$ Hz, 1H), 6.70 (s, 1H), 7.27 (s, 1H), 7.31 (d, $J=5.0$ Hz, 1H), 7.42 (d, $J=5.0$ Hz, 1H), 7.44 (s, 1H). FAB-MS (MALDI-TOF): 356.4 [M+1].

trans-4-Metossi-6-[2-(3,4,5-trimetossi-fenil)-vinil]-benzo[b]tiofene – ST2050:

Solido giallo; p.f.=171-173°C. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 3.89 (s, 6H), 3.94 (s, 3H), 4.03 (s, 3H), 6.78 (s, 2H), 6.95 (s, 1H), 7.10 (s, 2H), 7.33 (d, $J=5.6$ Hz, 1H), 7.47 (d, $J=5.6$ Hz, 1H), 7.58 (s, 1H). FAB-MS (MALDI-TOF): 356.3 [M+1].

cis-6-[2-(3,4,5-trimetossi-fenil)-vinil]-benzofuran-4-ol – ST2179:

Solido bianco che solidifica a +4°C; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 3.64 (s, 6H), 3.83 (s, 3H), 5.94 (s, 1H), 6.73 (s, 2H), 6.82 (d, $J=6.0$ Hz, 1H), 6.85 (d, $J=2.2$ Hz, 1H), 6.99 (s, 2H), 7.24 (d, $J=6.0$ Hz, 1H), 7.55 (d, $J=2.2$ Hz, 1H).

trans-6-[2-(3,4,5-trimetossi-fenil)-vinil]-benzofuran-4-ol – ST2180:

Solido giallo chiaro, p.f.=142-143°C; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 3.89 (s, 6H), 3.92 (s, 3H), 5.50 (s, 1H), 6.74 (s, 2H), 6.93 (s, 1H), 7.03 (s, 2H), 7.35 (d, $J=5.2$ Hz, 1H), 7.43 (d, $J=5.2$ Hz, 1H), 7.56 (s, 1H).

cis-4-metossi-6-[2-(3,4,5-trimetossi-fenil)-vinil]-benzofurano

- ST2051:

Olio giallo. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 3.65 (s, 6H), 3.74 (s, 3H), 3.83 (s, 3H), 6.52 (s, 1H), 6.55 (d, $J=11.2$ Hz, 1H), 6.62 (d, $J=11.2$ Hz, 1H), 6.63 (s, 1H), 6.80 (s, 1H), 7.27 (s, 1H), 7.10 (s, 1H), 7.51 (s, 1H). FAB-MS (MALDI-TOF): 356.4 [M+1]. FAB-MS (MALDI-TOF): 340.6 [M+1].

trans-4-metossi-6-[2-(3,4,5-trimetossi-fenil)-vinil]-benzofurano - ST2052:

Solido giallo, p.f.=152-153°C; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 3.88 (s, 6H), 3.94 (s, 3H), 4.00 (s, 3H), 6.76 (s, 2H), 6.84 (s, 2H), 7.08 (s, 2H), 7.28 (d, $J=2.2$ Hz, 1H), 7.54 (d, $J=2.2$ Hz, 1H). FAB-MS (MALDI-TOF): 340.6 [M+1].

cis-5-[2-(3,4,5-trimetossi-fenil)-vinil]-benzo[b]tiofen-7-ol -

ST2487:

Solido marrone, p.f.=152-154°C; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 3.63 (s, 6H), 3.83 (s, 3H), 5.51 (s, 1H), 6.48 (d, $J=12.2$ Hz, 1H), 6.52 (s, 1H), 6.64 (d, $J=12.2$ Hz, 1H), 6.73 (s, 1H), 7.26 (s, 1H), 7.29 (d, $J=3.2$ Hz, 1H), 7.41 (d, $J=3.2$ Hz, 1H), 7.43 (s, 1H).

trans-5-[2-(3,4,5-trimetossi-fenil)-vinil]-benzo[b]tiofen-7-ol -

ST2488:



Solido giallo chiaro, p.f.=172-174°C; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 3.89 (s, 6H), 3.92 (s, 3H), 5.63 (s, 1H), 6.74 (s, 2H), 6.94 (s, 1H), 7.02 (d, $J=2.8$ Hz, 1H), 7.32 (d, $J=5.2$ Hz, 1H), 7.45 (d, $J=5.2$ Hz, 1H), 7.53 (s, 1H).

cis-5-[2-(3,4,5-trimetossi-fenil)-vinil]-benzofuran-7-ol —

ST2491 (27b):

Solido bianco, p.f.=140-141°C; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 3.63 (s, 6H), 3.83 (s, 3H), 5.33 (s, 1H), 6.46 (d, $J=12.4$ Hz, 1H), 6.52 (s, 1H), 6.57 (d, $J=12.4$ Hz, 1H), 6.69 (d, $J=2.2$ Hz, 1H), 6.82 (s, 1H), 7.12 (s, 1H), 7.26 (s, 1H), 7.58 (d, $J=2.2$ Hz, 1H).

trans-5-[2-(3,4,5-trimetossi-fenil)-vinil]-benzofuran-7-ol —

ST2492 (28b):

Solido bianco, p.f.=173-175°C; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 3.89 (s, 6H), 3.92 (s, 3H), 6.01 (s, 1H), 6.74 (s, 2H), 6.97 (s, 1H), 7.06 (d, $J=3.2$ Hz, 1H), 7.26 (d, $J=5.2$ Hz, 1H), 7.45 (d, $J=5.2$ Hz, 1H), 7.60 (s, 1H).

Esempio 4

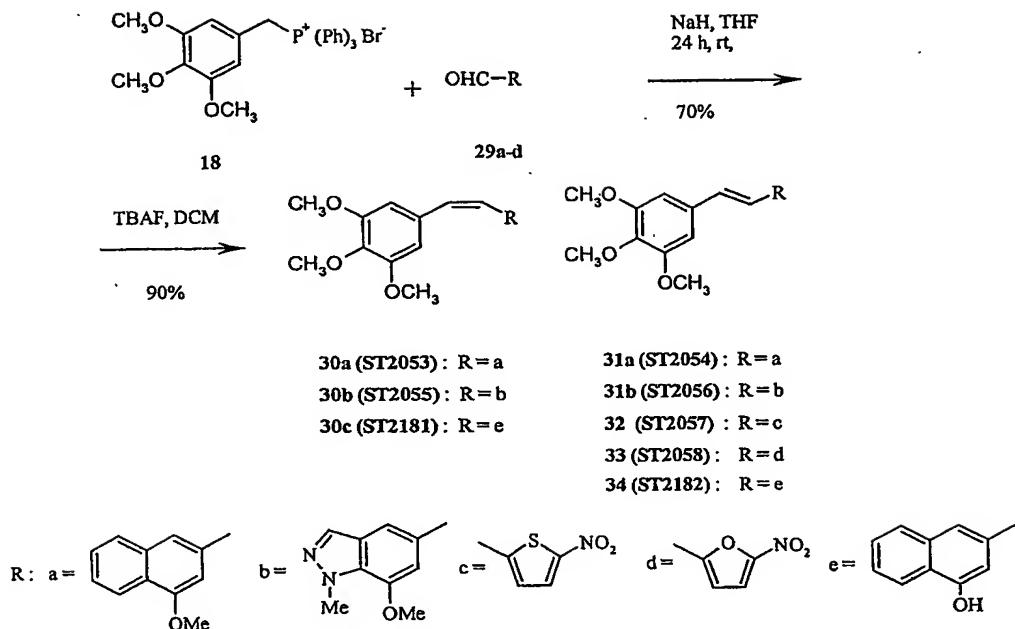
Preparazione di ST2053, ST2054, ST2055, ST2056, ST2057,

ST2058, ST2181, ST2182

Questi composti vengono preparati secondo lo schema di sintesi N° 6 di seguito riportato

Le aldeidi 29a,b sono state preparate con una metodologia sintetica del tutto simile a quella utilizzata per preparare le aldeidi 17a,d (Schema 4)

SCHEMA 6



cis-1-metossi-3-[2-(3,4,5-trimetossifenil)-vinil]-naftalene —

ST2053:

Olio incolore. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 3.63 (s, 6H), 3.75 (s, 3H), 3.83 (s, 3H), 6.57 (s, 1H), 6.66 (d, $J=13.2$ Hz, 1H), 6.71 (d, $J=13.2$ Hz, 1H), 6.75 (s, 1H), 7.44 (m, 4H), 7.69 (m, 1H), 8.12 (m, 1H). FAB-MS (MALDI-TOF): 350.3 [M+1].

trans-1-metossi-3-[2-(3,4,5-trimetossifenil)-vinil]-naftalene —

ST2054:

Solido giallo; p.f.=166-168°C. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 3.89 (s, 3H), 3.95 (s, 6H), 4.09 (s, 3H), 6.80 (s, 2H), 7.06 (s, 1H), 7.16 (s, 2H), 7.46 (m, 3H), 7.76 (dd, $J=9.2$ e 1.8 Hz, 1H), 8.20 (dd, $J=9.2$ e 1.8 Hz, 1H). FAB-MS (MALDI-TOF): 350.3 [M+1].

cis-7-metossi-1-metil-5-[2-(3,4,5-trimetossifenil)-vinil]-1H-indazolo – ST2055:

Solido bianco, p.f. 182-183°C; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 3.64 (s, 3H), 3.67 (s, 3H), 3.82 (s, 3H), 4.23 (s, 3H), 6.51 (d, $J=12.5$ Hz, 1H), 6.53 (s, 2H), 6.59 (d, $J=12.5$ Hz, 1H), 7.19 (s, 1H), 7.80 (s, 2H).

trans-7-metossi-1-metil-5-[2-(3,4,5-trimetossifenil)-vinil]-1H-indazolo – ST2056:

olio; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 3.86 (s, 3H), 3.91 (s, 6H), 4.01 (s, 3H), 4.28 (s, 3H), 6.73 (s, 2H), 6.94 (d, $J=15.8$ Hz, 1H), 7.06 (d, $J=15.8$ Hz, 1H), 7.31 (s, 1H), 7.86 (s, 2H).

2-Nitro-5-[2-(3,4,5-trimetossi-fenil)-vinil]-tiofene – ST2057:

olio giallino, $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 3.89 (s, 3H), 3.93 (s, 6H), 6.73 (s, 2H), 6.99 (d, 1H, $J = 4.4$ Hz), 7.06 (s, 2H), 7.85 (d, 1H, $J = 4.4$ Hz).

2-Nitro-5-[2-(3,4,5-trimetossi-fenil)-vinil]-furano – ST2058:

olio giallino, $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 3.90 (s, 3H), 3.92 (s, 6H), 6.53 (d, 1H, $J = 3.7$ Hz), 6.76 (s, 2H) 7.28 (s, 2H), 7.38 (d, 1H, $J = 3.6$ Hz).

cis-3-[2-(3,4,5-trimetossi-fenil)-vinil]-naftalen-1-ol – ST2181:

solido giallo, p.f. 163-165°C; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 3.62 (s, 6H), 3.84 (s, 3H), 5.56 (s, 1H), 6.53 (d, $J=12.4$ Hz, 1H), 6.56 (s, 2H), 6.68 (d, $J=12.4$ Hz, 1H), 6.79 (s, 1H), 7.38 (s, 1H), 7.45 (m, 2H), 7.72 (dd, $J=9.8$ e 3.6 Hz, 1H), 8.11 (dd, $J=9.8$ e 3.6 Hz, 1H).

trans-3-[2-(3,4,5-trimetossi-fenil)-vinil]-naftalen-1-ol – ST

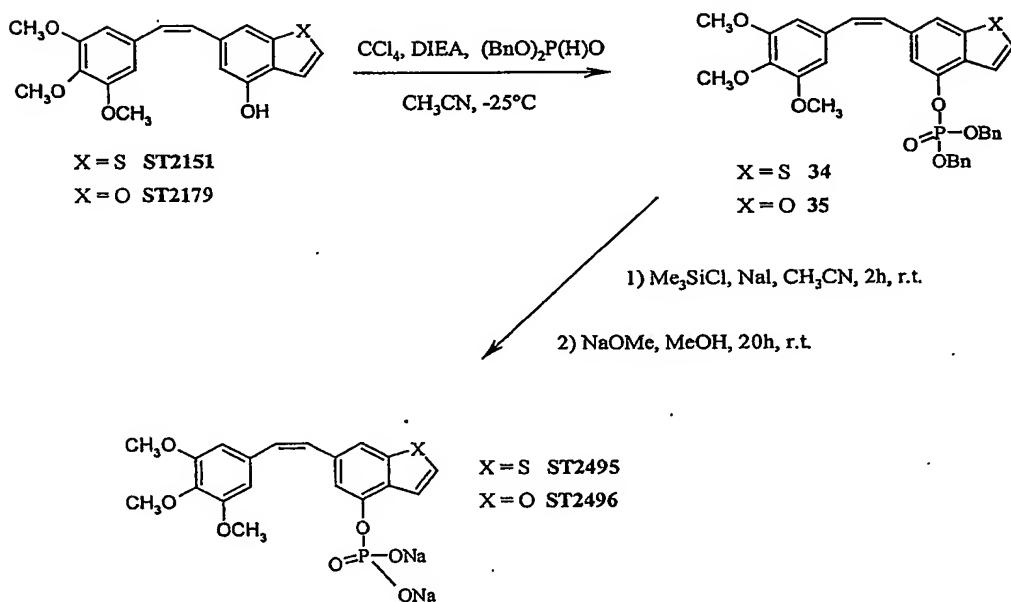
2182:

Solido giallo, p.f.=176-178°C; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 3.90 (s, 3H), 3.93 (s, 6H), 5.73 (s, 1H), 6.77 (s, 2H), 7.07 (m, 3H), 7.46 (m, 3H), 7.80 (dd, $J=9.6$ e 2.8 Hz, 1H), 8.14 (dd, $J=9.6$ e 2.8 Hz, 1H).

Esempio 5

Schema di sintesi 7

SCHEMA 7



Procedura generale per ottenere 34, 35

Ad una soluzione 1.2 mmoli di ST2151 (o ST2179) in 5 mL CH_3CN anidro, raffreddata a -25°C , sono stati aggiunti 581 μL (6 mmoli; 5 eq.) di CCl_4 . Dopo circa 10 minuti sono stati aggiunti nell'ordine: 429 μL (2.59 mmoli; 2.1 eq.) di diisopropil-etil-ammina, 15 mg (0.12 mmoli; 0.1 eq.) di dimetilammino-piridina e 383 μL (1.74 mmoli; 1.45 eq.) di dibenzil-fosfito. Dopo 2 h a -10°C la reazione è completa e la reazione è stata addizionata di 20 mL di KH_2PO_4 0.5 M e la fase acquosa dibattuta con AcOEt (3x10 mL).

Le fasi organiche sono state seccate su Na₂SO₄ anidro ed il grezzo purificato per cromatografia su SiO₂ con Esano/AcOEt 75:25 per dare 1.05 mmoli: resa 88% del prodotto atteso come olio giallo.

6[(Z)-2-(3,4,5-trimetossifenil)etenil]-1-benzotiofen-4-olo-4-O-dibenzil-fosfato (34). R_f = 0.11 in Esano/AcOEt 8:2, MS-IS:[M+H]⁺= 603.2

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 3.6 (s, 6H, 2xOCH₃), 3.8 (s, 3H, OCH₃), 5.05 (s, 2H, CH₂), 5.1 (s, 2H, CH₂), 6.5 (s, 2H, 2xCH_{ar}), 6.6 (bs, 2H, 2xCH_{ar}), 7.2-7.4 (m, 11H, 11xCH_{ar}), 7.6 (s, 1H, CH_{ar}).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ: 56.1; 61.1; 70.3; 106.4; 115.9; 119.7; 120.4; 127.1; 128.2; 128.8; 128.9; 129.0; 131.1; 131.6; 132.2; 134.9; 135.6; 153.2.

6[(Z)-2-(3,4,5-trimetossifenil)etenil]-1-benzofuran-4-olo-4-O-dibenzil-fosfato (35). R_f = 0.20 in Es/AcOEt 7:3, MS-IS:[M+H]⁺= 587.2

¹H-NMR (300MHz, CDCl₃) δ: 3.6 (s, 6H, 2xOCH₃), 3.8 (s, 3H, OCH₃), 5.05 (s, 2H, CH₂), 5.1 (s, 2H, CH₂), 6.45 (s, 2H, 2xCH_{ar}), 6.55 (bs, 2H, 2xCH_{ar}), 6.75 (bs, 1H, CH_{ar}), 7.05 (s, 1H, CH_{ar}), 7.2-7.4 (m, 11H, 11xCH_{ar}), 7.5 (bs, 1H, CH_{ar}).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ: 56.1; 61.1; 70.3; 98.8; 104.3; 106.4; 109.1; 115.1; 119.9; 128.2; 128.8; 128.9; 129.2; 130.9; 132.3; 134.7; 135.5; 145.5; 153.2; 156.5.

Procedura generale per ottenere ST2495, ST2496

Alla soluzione di 1.2 mmoli del dibenzil-estere 34 (o 35) in 7 mL di CH₃CN anidro sono stati aggiunti, a temperatura ambiente,

36 mg (2.4 mmoli; 2 eq.) di NaI e quindi la soluzione di 303 μ L (2.4 mmoli; 2 eq.) di Me₃SiCl in 1 mL di CH₃CN anidro. Dopo 2 h la reazione è completa ed è stata aggiunta la minima quantità d'acqua per solubilizzare i sali, ed una soluzione al 10% di Na₂S₂O₃ fino a decolorazione della miscela di reazione. La soluzione così ottenuta è stata dibattuta con AcOEt fino a completa estrazione del prodotto in fase organica; le fasi organiche sono state seccate su Na₂SO₄ ed il solvente rimosso sotto vuoto.

L'olio grezzo così ottenuto è stato sciolto in 4 mL di MeOH anidro e alla soluzione sono stati aggiunti 130 mg (2.4 mmoli; 2 eq.) di NaOMe. La miscela è stata lasciata a temperatura ambiente per 20 h, fino a completa salificazione. Il solvente è stato quindi rimosso sotto vuoto ed il residuo lavato con Et₂O per dare 1.1 mmoli (Resa: 92%) di prodotto come solido bianco.

Disodio 6[(Z)-2-(3,4,5-trimetossifenil)etenil]-1-benzotiofen-4-olo 4-O-fosfato – ST2495.

T dec = 226°, MS-IS:[M-1] = 419.

¹H-NMR (300 MHz, D₂O) δ: 3.4 (s, 3H, OCH₃), 3.1 (s, 3H, OCH₃), 3.75 (s, 3H, OCH₃), 6.4-6.45 (d, 1H, CHolef), 6.5(s, 2H, 2xCHar), 6.1-6.15 (d, 1H, CHolef), 7.25-7.5 (m, 4H, 4xCHar).

¹³C-NMR (75 MHz, D₂O) δ: 30.4; 55.7; 56.0; 56.2; 61.1; 104.1; 106.9; 115.5; 116.6; 121.5; 121.6; 126.1; 126.3; 127.6; 128.3; 128.6; 128.9; 129.9; 130.7; 132.6; 132.7; 133.6; 134.3; 134.7; 136.1; 140.9; 141.6; 149.2; 152.3; 152.8.

Disodio 6[(Z)-2-(3,4,5-trimetossifenil)etenil]-1-benzofuran-4-olo 4-O-fosfato, - ST2496.

T dec = 212°, MS-IS: [M-1] = 403.

¹H-NMR (300MHz, D₂O) δ: 3.5 (s, 6H, 2xOCH₃), 3.6 (s, 3H, OCH₃), 6.4-6.45 (d, 1H, CHolef), 6.5(s, 2H, 2xCHar), 6.6-6.65 (d, 1H, CHolef), 6.85-7.1 (m, 3H, 3xCHar), 7.5 (s, 1H, CHar).

¹³C-NMR (75MHz, D₂O) δ: 30.4; 55.8; 56.0; 56.2; 61.1; 98.8; 104.1; 104.2; 104.8; 105.9; 106.8; 114.9; 120.3; 127.6; 128.0; 128.6; 129.7; 130.9; 133.7; 134.2; 136.1; 145.2; 147.4; 152.1; 152.3; 152.8; 156.0.

Sono anche oggetto della presente invenzione gli intermedi di sintesi 15a,b, 16a-d, 17a-d, 23a,b, 24a,b, e 26a,b descritti negli schemi 4 e 5.

Colture cellulari e test di citotossicità

L'effetto citotossico dei derivati dei derivati ST2151 ed ST 2179 venne valutato su una serie di linee cellulari umane e murine.

Le cellule endoteliali di vena ombelicale umana (HUVEC), provenienti dalla ditta Biowhittaker, vennero mantenute in coltura in terreno EGM-2 (BioWhittaker).

Le cellule endoteliali di microcircolo bovino (BMEC), isolate da ghiandole surrenali bovine, vennero mantenute in coltura in DMEM contenente 20% FBS, 50 µg/ml di estratto di cervello bovino (BBE), 50 unità/ml Eparina (SIGMA), 100 unità/ml gentamicina (SIGMA) e 10 mg/ml L-glutammina (Hyclone). La linea EA-

hy926, un ibridoma immortalizzato di HUVEC e cellule di adenocarcinoma, ottenuta dal Dipartimento di Scienze Biomediche e Oncologia Umana dell'Università di Bari, venne coltivata in DMEM addizionato con 10% FBS e gentamicina.

Le seguenti linee cellulari, acquistate dall'ATCC, vennero coltivate secondo le istruzioni della ditta produttrice: melanoma umano MeWo, carcinoma polmonare umano NCI-H460, adenocarcinoma del colon umano LoVo, carcinoma prostatico umano PC3, melanoma umano MeWo.

La linea di carcinoma polmonare murino M109 e la linea di adenocarcinoma del colon umano HT29, ottenute dall'Istituto dei Tumori di Milano, vennero coltivate in RPMI contenente 10% FBS e antibiotici.

La linea di melanoma murino B16/BL6, ottenuta dall'Istituto M.Negri di Milano, venne coltivata in DMEM contenente 10%FBS e antibiotici.

Per il test di citotossicità le cellule vennero seminate ad una densità variabile a seconda del tipo cellulare in piastre a 96 pozetti in normale terreno di coltura (200 µl/pozzetto) ed incubate per 24 ore a 37°C. Il giorno successivo vennero aggiunte le sostanze in studio a concentrazioni scalari e le cellule vennero incubate per ulteriori 24 ore a 37 °C in atmosfera umidificata contenente CO₂ al 5%. Al termine del periodo di incubazione il terreno contenente le sostanze venne rimosso e vennero eseguiti tre lavaggi con PBS. Al termine dei lavaggi vennero aggiunti 200 µl/pozzetto di terreno fre-



sco e le piastre vennero incubate a 37 °C per ulteriori 48 ore. Allo scadere di questo periodo di incubazione il terreno di coltura venne rimosso mediante capovolgimento e vennero aggiunti 200 µl/pozzetto di PBS e 50 µl di acido tricloroacetico (TCA) all'80% freddo. Le piastre vennero quindi messe ad incubare in ghiaccio. Dopo 1 h il TCA venne rimosso, le piastre vennero lavate 3 volte per immersione in acqua distillata ed asciugate prima su carta, poi in stufa. In tutti i pozzi vennero aggiunti 200 µl di sulfurodamina B allo 0,4% in acido acetico all'1%. Le piastre vennero incubate a temperatura ambiente per altri 30 minuti. La sulfurodamina B venne rimossa per capovolgimento, le piastre vennero lavate per immersione in acido acetico all'1% per 3 volte, quindi vennero asciugate prima su carta assorbente, poi in stufa. In tutti i pozzi vennero aggiunti 200 µl di Tris base 10 mM e le piastre vennero messe sotto agitazione per almeno 20 min. La densità ottica venne rilevata mediante lettura spettrofotometrica a 540 nm.

In Tabella 1 vengono mostrati i valori di IC₅₀ di ST2151 ed ST2179, ossia la concentrazione in grado di inibire il 50% della sopravvivenza cellulare, elaborati con il software "ALLFIT".

Tabella 1

Linea cellulare	ST2151	ST2179
BMEC	87±1	49±1
HUVEC	49±0.64	n.d.
EAHY.926	52±4.9	40±3.9
NCI-H460	74±2.9	53±1.3
M109	490±30	93±6
HT29	900±65	990±40
LoVo	360±0.01	490±0.04
PC3	120±0.01	100±0.01
B16/BL6	85±0.5	44±3.8
MeWo	68±5	71±17

Test di inibizione della polimerizzazione della tubulina

Il test di inibizione della polimerizzazione della tubulina in presenza di ST2151 venne eseguito come descritto da Shiff et al (Biochemistry, 1981, 20: 3247-3252) con alcune modifiche. In breve, la tubulina ricca in proteine associate ai microtubuli (MAP) venne diluita alla concentrazione di 3 mg/ml in PEM buffer [100 mM PIPES (pH 6.9), 1 mM EGTA e 1 mM MgCl₂] contenente 1 mM GTP (GPEM), e mantenuta in ghiaccio. La soluzione venne posta a 37° C e la polimerizzazione seguita mediante misura dell'assorbanza a 340 nm ogni 25 secondi ad uno spettrofotometro equipaggiato con un dispositivo di controllo elettronico della temperatura (Cobas-Mira Analyzer). Dopo 5 minuti, quando la tubulina polimerizzata aveva raggiunto uno stato stabile, 5 µM Taxol, 1,35 µM Colcemid, o ST2151 vennero aggiunti e le misure di assorbanza eseguite per ulteriori 15 min. I valori di IC₅₀ vennero determinati

mediante analisi della regressione non lineare con il software "Prism GraphPad".

I valori mostrati in Tabella 2 sono la media di 3 determinazioni indipendenti.

Tabella 2

Composto	IC50 ± SE (μ M)
ST2151	58.6±2.7

Valutazione dell'attività antitumorale

L'attività antitumorale di ST2151, ST2495 ed ST2496 venne saggia in un modello animale di carcinoma polmonare umano.

In questo modello cellule di carcinoma polmonare umano NCI-H460 alla densità di 3x10⁶ cellule/topo vennero iniettate sottocute nel fianco destro di topi nudi CD1.

A partire dal 4° o dal 6° giorno dall'inoculo del tumore gli animali vennero trattati con le molecole in studio a varie dosi e secondo vari schemi di trattamento (vedi tabelle).

Tutti gli animali vennero pesati durante il corso del trattamento per aggiustare il volume della somministrazione del farmaco e per registrare la percentuale di perdita di peso corporeo.

La crescita tumorale venne analizzata mediante misurazione due volte a settimana del diametro più corto (larghezza) e del diametro più lungo (lunghezza) di ogni tumore mediante un calibro "Vernier" e l'attività antitumorale venne valutata in termini di inibizione percentuale della crescita tumorale. Il volume tumorale venne calcolato mediante la seguente formula: volume tumorale

(TV) in mm³ =[lunghezza (mm) x larghezza (mm)²]/2. L'inibizione percentuale (%TVI) venne calcolata secondo la seguente equazione:

100-[(volume tumorale medio del gruppo trattato/ volume tumorale medio del gruppo di controllo) x 100]. Un valore di P≤0.05 venne considerato statisticamente significativo.

I risultati della sperimentazione con ST2151 ed ST2495 e con ST2496 sono riportati rispettivamente in tabella 3 e 4.



Tabella 3

Trattamento	n	% BW L	Mortalità	%TVI	
				Giorni dall'inoculo del tumore	10
Veicolo (10% DMSO)	7	0	0/7	/	/
ST2151 i.p. 25 mg/kg	7	0	0/7	95**	87**
Veicolo (sol. salina)	7	0	0/7	/	/
ST2495 p.o. 25 mg/kg	7	0	0/7	68*	64*
ST2495 i.p. 25 mg/kg	7	0	0/7	85**	72**

I composti vennero somministrati oralmente (p.o.) o intraperitonealmente (i.p.) alla dose di 25mg/kg al 6° e 10° giorno dall'inoculo del tumore.

*P<0.05; **P<0.01

Tabella 4

Trattamento	n	% BW L	Mortalità	%TVI Giorni dall'inoculo del tumore			
				4	7	11	14
Vehicle (saline)	8	0	0/8	/	/	/	/
ST2496 p.o. 30 mg/kg	8	0	0/8	0	31	45**	57**

Il composto venne somministrato oralmente (p.o.) alle dosi indicate dal 4° al 14°

giorno dall'inoculo del tumore secondo lo schema qdx5/w.

*P<0.05; **P<0.01

Come si evince dalle tabelle la somministrazione a livello intraperitoneale di ST2151 risultò significativamente attiva nell'inibire la massa tumorale, mentre l'ST2495 risultò attivo sia a livello orale che intraperitoneale.

Anche l'ST2496, somministrata oralmente, determinò un'inibizione significativa dei tumori rispetto ai controlli.

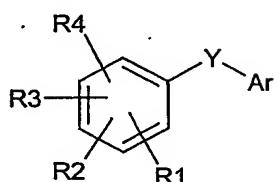
In accordo con un altro oggetto della presente invenzione, le composizioni farmaceutiche comprendono almeno un composto di Formula (I) come principio attivo, in una quantità tale da produrre un significativo effetto terapeutico. Le composizioni comprese nella presente invenzione sono del tutto convenzionali e sono ottenute con metodi di comune prassi nell'industria farmaceutica, come ad esempio illustrato in *Remington's Pharmaceutical Science Handbook*, Mack Pub. N.Y. - ultima edizione. A seconda della via di somministrazione scelta, le composizioni saranno in forma solida o liquida, adatte alla via orale, parenterale, endovenosa. Le composizioni secondo la presente invenzione comprendono assieme al principio attivo almeno un veicolo o eccipiente farmaceuticamente ac-

cettabile. Possono essere particolarmente utili coadiuvanti di formulazione, ad esempio solubilizzanti, disperdenti, agenti di sospensione, emulsionanti.

RM 2003 A 000355

RIVENDICAZIONI

1. Composti di formula (I)



nella quale:

i vari R_1 , R_2 , R_3 e R_4 , che possono essere uguali o diversi fra loro, sono H, OH, OPO_3Na_2 , OMe, NO_2 , F, Cl, Br;

Y è un gruppo scelto fra

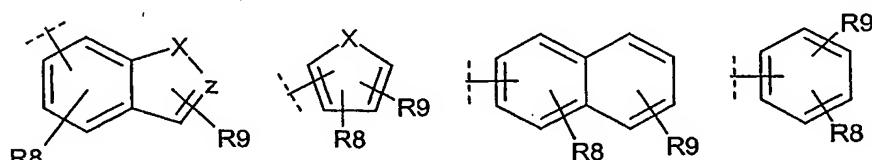


\rightsquigarrow : cis o trans

R_5 e R_6 , che possono essere uguali o diversi fra loro, sono H, oppure alogeno, ma non possono essere contemporaneamente H;

R_7 è H, OMe, SO_2Ph ;

Ar è un gruppo scelto fra:



R₈ e R₉, che possono essere uguali o diversi fra loro, sono H,
OH, OMe, OPO₃Na₂, NH₂, NHR₁₀, NO₂, alogeno;

R₁₀ è C₁-C₄ alchile o acile;

X è O, S, N, NR₁₁;

R₁₁ è H, CH₃, CH₂Ph;

Z è CH, N;

i loro enantiomeri, diastereoisomeri, le rispettive miscele e i
loro sali farmaceuticamente accettabili.

2. Composto secondo la rivendicazione 1, scelto nel gruppo che
consiste di:

2-metossi-5-[3-metossi-5-(3,4,5-trimetossi-fenil)-4,5-diidro-4-
isossazolil]-fenolo;

2-metossi-5-[3-metossi-4-(3,4,5-trimetossi-fenil)-4,5-diidro-5-
isossazolil]-fenolo;

5-[3-benzensulfonil-4-(3,4,5-trimetossi-fenil)-4,5-diidro-4-i-
sossazolil]-2-metossi-fenolo;

5-[3-benzensulfonil-5-(3,4,5-trimetossi-fenil)-4,5-diidro-5-i-
sossazolil]-2-metossi-fenolo;

2-metossi-5-[3-(3,4,5-trimetossi-fenil)-4,5-diidro-5-isossazo-
lil]-fenolo;

2-metossi-5-[5-(3,4,5-trimetossi-fenil)-4,5-diidro-3-isossazo-
lil]-fenolo;

2-metossi-5-[5-(3,4,5-trimetossi-fenil)-3-isossazol]-fenolo;
cis-6-[2-(3,4,5-trimetossi-fenil)-vinil]-benzo[b]tiofen-4-ol-;
trans-6-[2-(3,4,5-trimetossi-fenil)-vinil]-benzo[b]tiofen-4-ol;



cis-4-metossi-6-[2-(3,4,5-trimetossi-fenil)-vinil]-benzo[b]tiofene;
trans-4-metossi-6-[2-(3,4,5-trimetossi-fenil)-vinil]-benzo[b]tiofene;
cis-6-[2-(3,4,5-trimetossi-fenil)-vinil]-benzofuran-4-ol;
trans-6-[2-(3,4,5-trimetossi-fenil)-vinil]-benzofuran-4-ol;
cis-4-metossi-6-[2-(3,4,5-trimetossi-fenil)-vinil]-benzofurano;
trans-4-metossi-6-[2-(3,4,5-trimetossi-fenil)-vinil]-benzofurano;
cis-5-[2-(3,4,5-trimetossi-fenil)-vinil]-benzo[b]tiofen-7-ol;
trans-5-[2-(3,4,5-trimetossi-fenil)-vinil]-benzo[b]tiofen-7-ol;
cis-5-[2-(3,4,5-trimetossi-fenil)-vinil]-benzofuran-7-ol;
trans-5-[2-(3,4,5-trimetossi-fenil)-vinil]-benzofuran-7-ol;
cis-1-metossi-3-[2-(3,4,5-trimetossifenil)-vinil]-naftalene;
metossi-3-[2-(3,4,5-trimetossifenil)-vinil]-naftalene;
cis-7-metossi-1-metil-5-[2-(3,4,5-trimetossifenil)-vinil]-1H-indazolo;
trans-7-metossi-1-metil-5-[2-(3,4,5-trimetossifenil)-vinil]-1H-indazolo;
2-nitro-5-[2-(3,4,5-trimetossi-fenil)-vinil]-tiofene;
2-nitro-5-[2-(3,4,5-trimetossi-fenil)-vinil]-furano;
cis-3-[2-(3,4,5-trimetossi-fenil)-vinil]-naftalen-1-ol;
trans-3-[2-(3,4,5-trimetossi-fenil)-vinil]-naftalen-1-ol;
disodio 6[(Z)-2-(3,4,5-trimetossifenil)etenil]-1-benzotiofen-4-olo 4-O-fosfato;

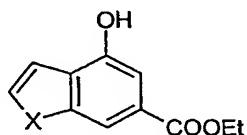
disodio 6[(Z)-2-(3,4,5-trimetossifenil)etenil]-1-benzofuran-4-
olo 4-O-fosfato.

3. Uso dei composti delle rivendicazioni 1-2 come medicamenti.
4. Uso dei composti delle rivendicazioni 1-2 per la preparazione di un medicamento per il trattamento di malattie di tipo oncologico.
5. Uso dei composti delle rivendicazioni 1-2 per la preparazione di un medicamento per il trattamento di patologie tumorali, che rispondono a un'attività citotossica.
6. Uso secondo la rivendicazione 5, nel quale detta patologia è scelta nel gruppo che consiste di sarcoma, carcinoma, carcinoide, tumore osseo, tumore neuroendocrino, leucemia linfoide, leucemia mielocitica, leucemia monocitica, leucemia megacariocitica o malattia di Hodgkin.
7. Uso dei composti della rivendicazione 1 per la preparazione di un medicamento per il trattamento di patologie legate ad una alterata angiogenesi.
8. Uso secondo la rivendicazione 7, nel quale detta patologia è scelta nel gruppo che consiste di patologia artritica, tumori che rispondono a un'attività antiangiogenica, metastatizzazione, retinopatia diabetica, psoriasi, infiammazione cronica, e arteriosclerosi.
9. Uso secondo una delle rivendicazioni da 4 a 8, nel quale, nel trattamento di tumori, i composti delle rivendicazioni 1-2 sono in associazione con almeno un altro farmaco antiblastico.

10. Uso secondo la rivendicazione 9, nel quale detto farmaco antitumorale è scelto nel gruppo che consiste di agenti alchilanti; inibitori delle topoisomerasi; antitubulinici; intercalanti; antimetaboliti; prodotti naturali quali alcaloidi della Vinca, epipodofillotossine, antibiotici, enzimi, taxani e vaccini antitumorali.

11. Composizione farmaceutica comprendente come principio attivo un composto delle rivendicazioni 1-2 in miscela con un eccipienti e/o diluente farmaceuticamente accettabile.

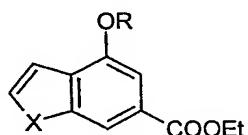
12. Uso del composto di formula



nel quale X è ossigeno o zolfo, come intermedio per la preparazione dei composti delle rivendicazioni 1-2.

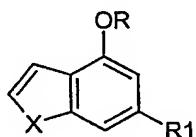
13. Composto di formula

nel quale:



X è ossigeno o zolfo, R è metile, oppure terbutil-dimetilsilile.

14. Composto di formula

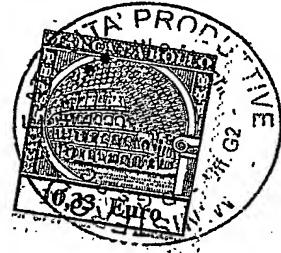
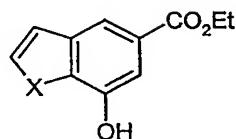


nel quale,

X è ossigeno o zolfo, R è metile, oppure terbutil-dimetilsilile.

R₁ è formile.

15. Uso del composto di formula

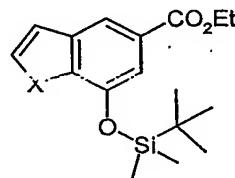


nel quale

X è ossigeno o zolfo come intermedio per la preparazione dei composti delle rivendicazioni 1-2.

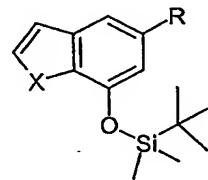
16. Composto di formula

nel quale:



X è ossigeno o zolfo.

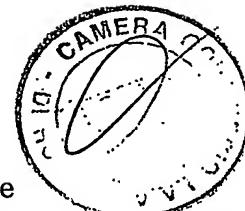
17. Composto di formula



nel quale:

X è ossigeno o zolfo.

18. Uso dei composti delle rivendicazioni 13-14 e 16-17 come intermedi nella preparazione dei composti delle rivendicazioni 1-2.



p.i. di SIGMA-TAU Industrie Farmaceutiche Riunite S.p.A.

Dott. Marco Spadaro